

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-257066

(43)公開日 平成5年(1993)10月8日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

G 0 2 B 21/00

識別記号

府内整理番号

7246-2K

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数2(全7頁)

(21)出願番号

特願平4-55362

(22)出願日

平成4年(1992)3月13日

(71)出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72)発明者 田村 恵祐

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ

ンパス光学工業株式会社内

(72)発明者 林 真市

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ

ンパス光学工業株式会社内

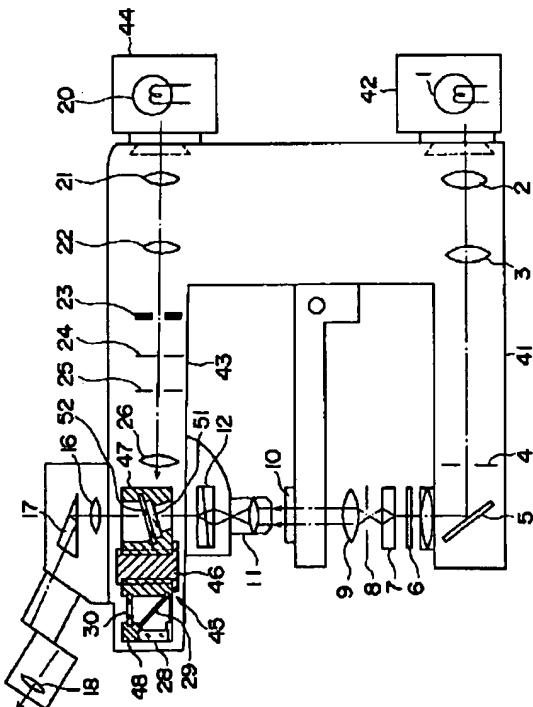
(74)代理人 弁理士 鈴江 武彦

(54)【発明の名称】 システム顕微鏡

(57)【要約】

【目的】本発明は、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と各種落射観察との切換えを迅速化することを目的とする。

【構成】透過微分干渉観察時あるいは透過偏光観察時に試料10を通過した後の直線偏光を干渉させるアナライザー51とこのアナライザー51で干渉した光を無偏光にするデポラライザー52と、単体からなるアナライザーキューブ47に設けられた貫通路56上に保持し、落射観察用のキューブ48を観察光路に対して挿脱させる担持体46に、前記アナライザーキューブ47を取り付けて、前記落射観察用のキューブ48に連動して前記アナライザーキューブ47を前記観察光路に挿脱するものとした。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と落射観察とを切換えて複合観察が行なえるシステム顕微鏡において、透過微分干渉観察時あるいは透過偏光観察時に試料を通過した後の直線偏光を干渉させるアナライザーとこのアナライザーで干渉した光を無偏光にするデポラライザーとを、単体からなるアナライザーキューブに設けられた貫通路上に保持し、落射照明観察に用いられる落射観察用のキューブを観察光路に対して挿脱させる担持体に、前記アナライザーキューブを取付けて、前記落射観察用のキューブに連動して前記アナライザーキューブを前記観察光路に挿脱することを特徴とするシステム顕微鏡。

【請求項2】 前記アナライザーキューブは、前記アナライザーと前記デポラライザーとが観察光路の光軸に対して互いに逆方向に傾けられて保持されていることを特徴とする請求項1記載のシステム顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、1台の顕微鏡で透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と落射観察とを切換えて観察することのできるシステム顕微鏡に係り、さらに詳しくは透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察に用いられるアナライザーとデポラライザーを保持するための構造の改良に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来より、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と落射蛍光観察を組合せて試料を観察する、いわゆる複合観察が知られている。これは、例えば蛍光色素で染色された細胞の輪郭部分を予め透過微分干渉観察によって確認し、その後に細胞内で発する蛍光を落射蛍光で観察するといったものである。システム顕微鏡において上記した複合観察を可能にするためには、図7～図9に示す光学系を備える必要がある。図7には、透過微分干渉観察のときの光学系の構成が示されている。

【0003】透過微分干渉観察は、光源1から出射した照明光をコレクタレンズ2によって平行光とし、この平行光を集光レンズ3によって集光し、さらに視野絞り4、折り返しミラー5を介してポラライザー6に入射して直線偏光とする。この直線偏光を第1の微分干渉プリズム7を通過させて直交する2つの直線偏光に変換し、開口絞り8、コンデンサレンズ9を介して試料10に対し裏面から入射する。試料10を通過する直交する2つの直線偏光は試料10の凹凸によって位相差が生じる。

【0004】この位相差が生じた直交する2つの直線偏光を観察光として対物レンズ11で捕らえ、その観察光を第2の微分干渉プリズム12を通過させた後、例えばスライダー13によって光路上に配置されたアナライザー14に入射して干渉させる。この干渉した光を、同一

のスライダー13によって光路上に配置されたデポラライザー15によって無偏光にし結像レンズ16によって集光する。その集光された観察光を、接眼プリズム17を介して接眼レンズ18で観察する。

【0005】上記アナライザー14及びデポラライザー15は、透過明視野、暗視野、位相差等の観察時には必要とされないため、アナライザー14及びデポラライザー15を保持するスライダー13を、光路に対して着脱可能にしている。図8には、透過偏光観察のときの光学系の構成が示されている。透過偏光観察は、光源1から出射した照明光を、上記透過微分干渉観察と同じ光学系を介してポラライザー6に入射し直線偏光とする。この直線偏光を開口絞り8、コンデンサレンズ9を介して試料10に対し裏面から入射する。

【0006】そして試料10を通過した直線偏光を対物レンズ11に入射し、さらにアナライザー14に入射して干渉させる。この干渉した光を、デポラライザー15によって無偏光にし結像レンズ16によって集光し接眼レンズ18で観察する。

【0007】以上が透過偏光観察におけるオルソスコープ観察法である。透過偏光観察でコノスコープ観察法を用いる場合には、ベルトランレンズ19を内蔵する中間鏡筒を、図示位置に挿入することによって、対物レンズ11の瞳面（後側焦点面）を観察する。図9には、落射蛍光観察のときの光学系の構成が示されている。

【0008】落射蛍光観察は、光源20から発した照明光を、コレクタレンズ21によって平行光とし、さらに集光レンズ22によって集光する。この光をシャッター23、開口絞り24、視野絞り25、照明レンズ26を介して、光路上に配置された蛍光キューブ27に入射する。

【0009】そして蛍光キューブ27に入射した光を、励起フィルター28を通過させて励起光とし、この励起光をダイクロイックミラー29で対物レンズ側へ反射させる。この対物レンズを通過した励起光を試料10に照射する。

【0010】試料10に励起光を入射することにより、試料10から発する蛍光を再び対物レンズ11を通過させて蛍光キューブ27に入射する。試料10からの蛍光はダイクロイックミラー29を通過して吸収フィルター30に入射する。そして吸収フィルター30により蛍光のみを通過させ結像レンズ16によって集光し、接眼レンズ18で観察する。

【0011】ところで、実際のシステム顕微鏡で上記複合観察を行う場合は、透過微分干渉観察では、蛍光キューブ27は必要ないため、空のキューブもしくはキューブが光路上に配置されない状態にしておき、シャッター23を閉じて落射照明光が観察光路に入射しないようにする。

【0012】また落射蛍光観察を行う場合には、アナ

3

イザー14及びデポラライザー15を保持するスライダー13を観察光路から取出し、蛍光キューブ27を観察光路上に挿入する。これにより、落射蛍光観察には不要なアナライザー14による光量損失を防止している。

#### 【0013】

【発明が解決しようとする課題】ところで、蛍光色素は照明光の照射時間に応じて褪色が進むため、照明光による照射時間を出来る限り短くすることが望ましい。そのため、透過微分干渉観察から落射蛍光観察へ切換えは迅速に短時間で完了させる必要がある。

【0014】しかしながら、上述した従来のシステム顕微鏡では、透過微分干渉観察から落射蛍光観察へ切換える場合、蛍光キューブ27を観察光路上に挿入する操作と、アナライザー14及びデポラライザー15を保持するスライダー13を観察光路から取出す操作とをそれぞれ分離して別々に行っているため、迅速な切換操作を実現するのが困難であった。また、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察から各種落射観察（例えば落射明視野観察、落射暗視野観察）へ切換る場合にも同様の問題があった。

【0015】本発明は以上のような実情に鑑みてなされたもので、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と各種落射観察との切換えを短時間で完了させることができ、特に蛍光色素の褪色を抑制し得るシステム顕微鏡を提供することを目的とする。

#### 【0016】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するためには本発明のシステム顕微鏡は、透過微分干渉観察時あるいは透過偏光観察時に試料を通過した後の直線偏光を干渉させるアナライザーとこのアナライザーで干渉した光を無偏光にするデポラライザーとを、単体からなるアナライザーキューブに設けられた貫通路上に保持し、落射観察用のキューブを観察光路に対して挿脱させる担持体に、前記アナライザーキューブを取付けて、前記落射観察用のキューブに連動して前記アナライザーキューブを前記観察光路に挿脱するものとした。

【0017】また本発明のシステム顕微鏡は、前記アナライザーと前記デポラライザーとを観察光路の光軸に対して互いに逆方向に傾けて前記アナライザーキューブに保持するものとした。

#### 【0018】

【作用】本発明のシステム顕微鏡では、落射観察用のキューブと透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察用のアナライザーキューブとが、一つの担持体に取付けられるため、担持体を回転あるいは直線移動させることにより、アナライザーキューブから落射観察用のキューブへ、あるいは落射観察用のキューブからアナライザーキューブへ1回の操作で切換えることができる。

【0019】またアナライザーとデポラライザーとが互いに逆方向に傾けられて保持されているため、透過偏光

50

4

観察におけるコノスコープ観察での芯ずれが問題にならない程度まで抑えられ、その結果として、オルソスコープ観察とコノスコープ観察との間の像ずれが防止される。

#### 【0020】

【実施例】以下、本発明の実施例について説明する。

【0021】図1には、本発明の第1実施例に係るシステム顕微鏡の全体の構成が示されている。本実施例は、透過微分干渉観察、透過偏光観察、落射蛍光観察を切換えて使用できるように光学系が構成されており、図7～図9において既に説明した各検鏡法の光学系と同一部分には同一符号を付して詳しい説明は省略する。

【0022】本実施例のシステム顕微鏡は、本体ベース41の背面にランプハウス42が着脱自在に取付けられており、そのランプハウス42内に光源1が収められている。本体ベース41の内部には、ランプハウス42からの透過照明光を観察光路まで導くための透過照明用投光管が内蔵されている。

【0023】また本体アーム43の背面にはランプハウス44が着脱自在に取付けられており、そのランプハウス44内に光源20が収められている。本体アーム43の内部には、ランプハウス44からの落射照明光を観察光路まで導くための落射照明用投光管が内蔵されている。

【0024】そして、透過微分干渉観察時にアナライザー及びデポラライザーが挿入され、かつ落射蛍光観察時に蛍光キューブが挿入される位置に、キューブ切換機構45が設けられている。このキューブ切換機構45は、観察光路の光軸と平行であってその光軸から所定距離離れた位置に回転軸46aを持つ担持体46を備えている。この担持体46に対してアナライザーキューブ47、落射蛍光キューブ48、落射キューブ49（図1では不図示）が着脱自在に取付けられる。図2はキューブ切換機構45の上面図を示している。

【0025】同図に示すように、担持体46は4角柱状をなしており、その各側面には光軸方向に沿ってアリ溝がそれぞれ設けられている。また各キューブ47、48、49には、担持体46への取付面に、上記アリ溝に嵌合する嵌合凸部がそれぞれ設けられている。さらに、キューブ切換機構45は、不図示の駆動機構を介して担持体46を回転させることができるようになっている。そして担持体46を回転させることにより各キューブ47、48、49が観察光路上に順次配置される。図3（a）（b）は上記アナライザーキューブ47の上面及び側断面をそれぞれ示している。

【0026】このアナライザーキューブ47は、上記した嵌合凸部55が一側面に設けられている。またアナライザーキューブ47は、観察光路上に配置されたときに光路の一部を形成する貫通路56が設けられていて、この貫通路にアナライザー51及びデポラライザー52が

保持されている。

【0027】アナライザー51は、偏光膜57をガラス板58とガラス板59とで挟んで接着固定してある。そしてアナライザー51とデポラライザー52を、互いの振動方向を一致させて、キューブ本体の貫通路56に接着固定している。

【0028】またデポラライザー52のガラス板59との接合面と対向する面52a及びガラス板58の偏光膜57との接合面と対向する面58aは、観察中に生じるフレアやゴーストを除去くための多層膜がコーティングされている。さらに、アナライザー51及びデポラライザー52は、光軸に対して共に同方向にある程度傾けて保持されている。

【0029】上記落射キューブ49は、ランプハウス44からの落射照明光を試料側へ反射させると共に試料からの観察光を透過させるハーフミラー49aを備えている。以上のように構成された本実施例では、図2に示すように、担持体46の各側面にアナライザーキューブ47、落射蛍光キューブ48、落射キューブ49がそれぞれアリ機構を介して取付けられる。

【0030】そして例えば、透過微分干渉観察を行う場合には、担持体46を外部から上記駆動機構を介して回転させてアナライザーキューブ47を観察光路上に配置させる。図1に示す光学系が透過微分干渉観察時の配置を示している。

【0031】透過微分干渉観察時には、光源20からの落射照明光はシャッター23で遮光され、光源1からの透過照明光が試料10を裏面から照明する。試料10を通過した直線偏光は、アナライザーキューブ47に入射し、そこでアナライザー51で干渉され、その干渉光がデポラライザー52に入射して無偏光にされる。

【0032】ここで、アナライザー51及びデポラライザー52は無限遠補正光学系の平行光束中に挿入されているが、アナライザー51及びデポラライザー52が光軸に対して傾けられていることからフレア、ゴーストが取り除かれる。しかも、上記したようにガラス板58、デポラライザー52の表面を多層膜コーティングしていることからその効果はさらに向上するものとなる。

【0033】次に、透過微分干渉観察から落射蛍光観察へ切換える場合は、担持体46を外部から回転させる。担持体46の回転に伴って、アナライザーキューブ47が観察光路から脱すると共に、アナライザーキューブ47の反対側の側面に取付けられている蛍光キューブ48が移動してきて観察光路上に配置される。これにより落射蛍光観察の準備が完了する。なお、光源1を消すか、あるいは試料10までの光路上で遮光するのは従来と同じである。

【0034】また、アナライザーキューブ47を観察光路上に配置させる透過偏光観察から、落射蛍光観察へ切換える場合にも、上記同様の担持体46の回転によっ

て、蛍光キューブ48が一回の操作で迅速に観察光路上に配置される。

【0035】従って、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察から落射蛍光観察への切換え操作、さらに詳しくはアナライザーキューブ47から蛍光キューブ48への交換が迅速に実行されることから、試料10の照明時間を短縮することができ蛍光色素の褪色が防がれる。

【0036】なお、上記した透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と落射蛍光観察との切換えに限らず、他の観察、例えば落射明視野観察、落射明視野観察への切換えも迅速に行うことができる。

【0037】この様に本実施例によれば、アナライザー51及びデポラライザー52を、蛍光キューブ48が取付けられる担持体46に対して取付けることのできるアナライザーキューブ47に内蔵し、そのアナライザーキューブ47を担持体46に取付けて使用するようにしたので、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と各種落射観察との切換えを迅速に行うことができる。特に、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察から落射蛍光観察への切換え時間を短縮できるので、蛍光色素の褪色を防ぐ効果がある。次に、本発明の第2実施例について説明する。

【0038】本実施例のシステム顕微鏡の全体の構成は、図1に示すシステム顕微鏡と同じであり、アナライザーキューブのみを図4に示すアナライザーキューブ60に交換している。従って、本実施例の説明では、アナライザーキューブ60についてのみ詳しく説明する。

【0039】図4にはアナライザーキューブ60の側面図が示されている。このアナライザーキューブ60は、担持体46に取付け可能な嵌合凸部をその一側面に持ち（図4には図示されていない）、その内部には観察光路上に配置されたときに光路の一部を形成する貫通路61を有している。この貫通路61には、偏光膜65及びこの偏光膜を挟むガラス板63、64からなるアナライザー65と、デポラライザー66とが、光軸に対して互いに逆の方向に傾けられて保持されている。

【0040】上記アナライザー65は、ガラス板63、64の各々の両面が研磨されおり、各ガラス板63、64の平行度E°、F°が小さな値に調整されている。しかも、両ガラス板63、64の偏光膜65と接しない側の面はそれぞれ多層膜のコーティングが施されている。そしてガラス板63、64の多層膜が形成されていない側の面で偏光膜62を接着してアナライザー65を構成している。上記デポラライザー66は、その両面を研磨することにより平行度B°を小さくしている。

【0041】以上のように構成されたアナライザーキューブ60が示す光学的作用について図5を参照すると共に、前記第1実施例で用いられたアナライザーキューブ47と比較しながら説明する。なお、図5(a)はアナライザーキューブ47、同図(b)はアナライザーキュ

ープ60の光軸に対する出射光の傾きをそれぞれ示している。アナライザーキューブ47の光軸に対する出射光の傾きを $\beta^\circ$ とすると、この傾き $\beta^\circ$ は次のようにいくつかの要素により幾何学的に計算される。

$\beta^\circ = f(M^\circ, N^\circ, L^\circ, r^\circ, tA^\circ, tB^\circ)$

【0042】ただし、M<sup>°</sup>はデボラライザー52単体での平行度、N<sup>°</sup>はアナライザー51単体での平行度、L<sup>°</sup>はアナライザー51とデボラライザー52を接着したときに生じる接合楔角度、r<sup>°</sup>は接着したアナライザー51とデボラライザー52をキューブ47に保持したときの光軸に対する角度、tA<sup>°</sup>はデボラライザー52の最小厚さ、tB<sup>°</sup>はアナライザー51の最小厚さである。またアナライザーキューブ60の光軸に対する出射光の傾きを $\alpha^\circ$ とすると、この傾き $\alpha^\circ$ は次のように幾何学的に計算される。

$\alpha^\circ = f(B^\circ, K^\circ, \alpha 1^\circ, \alpha 2^\circ, tC^\circ, tD^\circ)$

【0043】ただし、K<sup>°</sup>はアナライザー65単体での平行度、 $\alpha 1^\circ$ はデボラライザー66をキューブ60に保持したときの光軸と垂直な面に対する角度、 $\alpha 2^\circ$ はアナライザー65をキューブ60に保持したときの光軸と垂直な面に対する角度、tC<sup>°</sup>はデボラライザー66の最小厚さ、tD<sup>°</sup>はアナライザー65の最小厚さである。ここで、以下のように条件を設定する。

- (1)  $tA = tC, tB = tD$
- (2)  $r = \alpha 1^\circ = |\alpha 2^\circ|$
- (3)  $B < M, K < N$
- (4)  $L > 0$

【0044】以上の条件で、本実施例のアナライザーキューブ60の出射角度 $\alpha^\circ$ と、アナライザーキューブ47の出射角度 $\beta^\circ$ とを比較すると、一般的に $\alpha^\circ < \beta^\circ$ の関係が成立する。すなわち、本実施例のアナライザーキューブ60は、アナライザーキューブ47に比べて出射光の光軸に対する傾きが小さくなる。

【0045】アナライザーキューブを通過する光線の光軸に対する傾きは、透過偏光観察を行う場合に影響が現れる。すなわち、透過偏光観察におけるコノスコープ観察では、観察光路中にベルトランレンズを挿入して、対物レンズ11の射出瞳面（対物レンズの焦点面）を観察するため、アナライザーキューブの出射光が光軸に対して傾いていると、その傾き角度に応じて瞳面の芯ずれが生じる。

【0046】一方、透過偏光観察におけるオルソスコープ観察では、観察光路からベルトランレンズを外し、無限遠補正光学系で平行光束にされた光を結像レンズで結像してその結像面を観察するため、観察像に芯ずれは生じない。

【0047】ところで、透過偏光観察ではオルソスコープ観察とコノスコープ観察とを重ねて観察する場合があり、このような観察では出射光の傾きに影響を受けてい

ないオルソスコープ観察の像の上に、瞳面の芯ずれが生じているコノスコープ観察の像が重ねられるため、両者の間で像ずれが生じることになる。

【0048】本実施例では、アナライザーキューブ60を用いることにより、アナライザーキューブ60に入射した光の光軸に対する出射角度 $\alpha$ が極めて小さい値となるので、透過偏光観察でオルソスコープ観察とコノスコープ観察とを重ねて観察する場合にも両者の間で像ずれがほとんど生じなくなり、良好な観察が実現される。また、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と落射蛍光観察との切換え動作や、他の落射明視野観察、落射明視野観察への切換え動作は、前記第1実施例で詳しく説明したのでここでは説明を省略する。

【0049】この様に本実施例によれば、前記第1実施例と同様の作用効果を得ることができ、さらにアナライザーキューブ60にアナライザー65とデボラライザー66とを光軸に対して互いに逆方向に傾けて保持するようにしたので、コノスコープ観察における瞳面の芯ずれを抑えることができ、オルソスコープ観察とコノスコープ観察との間での像ずれを防止できる利点がある。図6には、前記第2実施例の変形例が示されている。

【0050】同図に示すアナライザーキューブ70は、基本的な構成は図4に示すものと同じであり、異なる点はアナライザー65' とデボラライザー66' の各単体の厚さがt6, t5であることである。

【0051】このアナライザーキューブ70は、光軸と垂直な面に対するアナライザー65', デボラライザー66' の傾き $\alpha 1^\circ, \alpha 2^\circ$ と、アナライザー65', デボラライザー66' の平行度B<sup>°</sup>, K<sup>°</sup>と、それぞれの単体の厚さt6, t5とを、それぞれ適当な値に選択することにより、上記3つの要素によって生じる入射光に対する出射光の光軸からの傾きを0にしている。

【0052】従って、本変形例のアナライザーキューブ70では、出射光が光軸から全くずれないでの、像面での像ずれや瞳面での芯ずれが全く生じない極めて高精度なものとなる。

【0053】なお、本発明は前記各実施例及び変形例に限定されるものではない。例えば、前記第1及び第2実施例では、担持体46にアナライザーキューブを着脱自在に取付けるために、アリ溝と嵌合凸部の組合わせを用いているが、例えばスライドアリを用いることもできる。

【0054】また前記各実施例ではキューブの交換に回転する担持体46を用いているが、観察光路に対して直線的に移動自在に設けられるスライダーを用いることもできる。このスライダーを担持体として用いる場合には、蛍光フィルタセット（励起フィルタ、ダイクロイックミラー、吸収フィルタ）、アナライザー及びデボラライザー、ハーフミラーの各セットを、スライダーに連続的に設けておく必要がある。

[0055]

【発明の効果】以上詳記したように本発明によれば、透過微分干渉観察あるいは透過偏光観察と各種落射観察との切換えを短時間で完了させることができ、特に蛍光色素の褪色を抑制し得るシステム顕微鏡を提供できる。

### 【画面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1実施例に係るシステム顕微鏡の全体構成図。

【図2】上記第1実施例に備えられるキューブ切換機構の上面図。

【図3】上記第1実施例に備えられるアナライザーキューブの上面及び側断面図。

【図4】本発明の第2実施例に係るシステム顕微鏡に備えられるアナライザーキューブの側断面図。

10

【図5】上記第2実施例に備えられるアナライザーキューブの動作説明図。

【図6】上記第2実施例の変形例となるアナライザーキューブの側断面図。

〔図7〕透過微分干渉観察時における光学系の構成図。

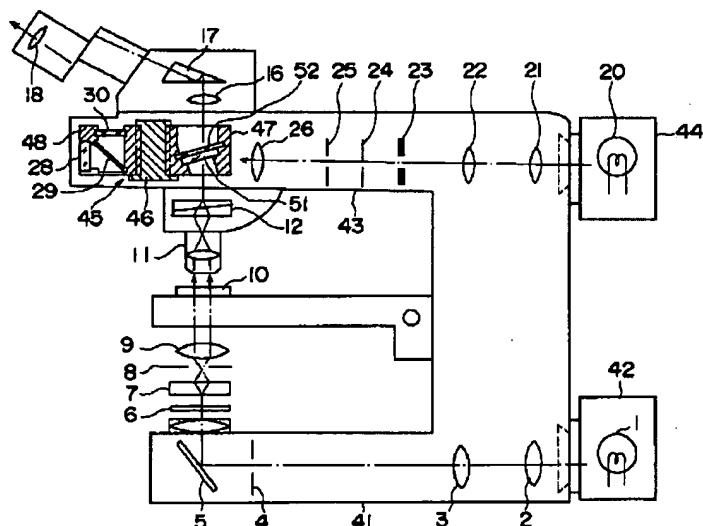
【図8】透過偏光観察時における光学系の構成図。

【図9】落射蛍光観察時における光学

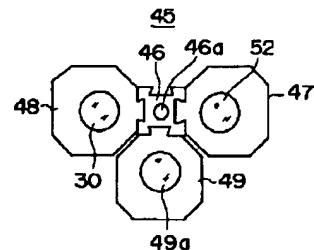
## 【符号の説明】

- 1, 20…光源、6…ポラライザー、7, 12…微分干渉プリズム、10…試料、11…対物レンズ、28…励起フィルタ、29…ダイクロイックミラー、30…吸収フィルタ、ノ46…担持体、47…アナライザーキューブ、48…蛍光キューブ、51…アラライザー、52…デポラライザー。

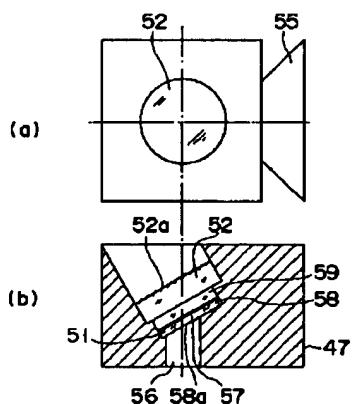
(图1)



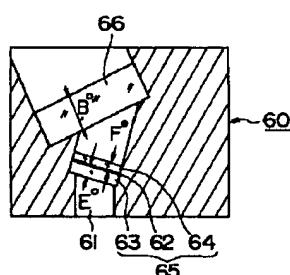
〔図2〕



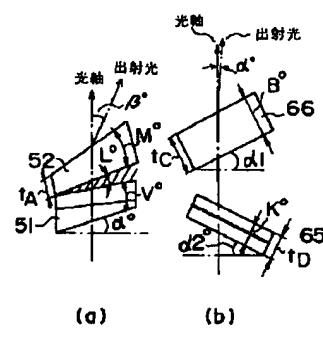
〔圖3〕



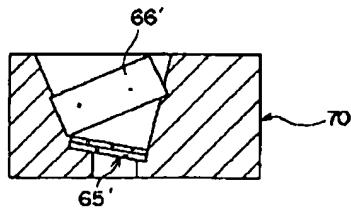
〔四〕



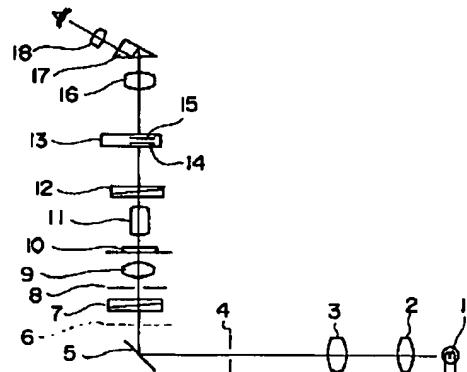
〔図5〕



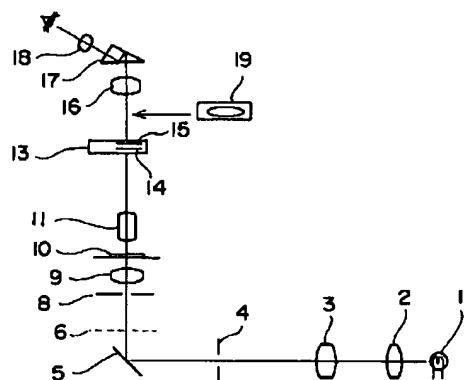
【図6】



【図7】



【図8】



【図9】

